

氏 名	岡野 匡志
学 位 の 種 類	博士 ( 医学 )
学 位 記 番 号	第 5893 号
学位授与年月日	平成 25 年 3 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学 位 論 文 名	Nucleated Cells Circulating in the Peripheral Blood Contribute to the Repair of Osteochondral Defects Only in the Early Phase of Healing (末梢血中を循環している有核細胞は骨軟骨欠損修復初期に寄与する)
論文審査委員	主 査 中村 博亮 教授      副 査 廣橋 一裕 教授 副 査 稲葉 雅章 教授

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

外傷や変形性関節症による骨軟骨欠損において、自然経過を追うことによって自己修復能力が確認されている。しかし、その自己修復過程には、骨髄や周囲の滑膜性組織が関与しているとする報告はあるが、末梢血の関与については明らかにされていない。今回の研究では、骨軟骨欠損の自然修復過程における末梢血中に存在する有核細胞の関与について明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

4 週齢のメス Lewis GFP (Green Fluorescent Protein) transgenic rat を用いて 4 週齢のメス Lewis wild type rat とパラバイオーシスモデルを作製した。パラバイオーシスモデル作製後、0, 1, 2, 4, 8, 16 および 28 週経過時点でそれぞれの血流中にしめる GFP 陽性有核細胞の割合についてフローサイトメトリーを用いて確認した。血液の共有が確認された後に、大腿骨顆部に直径 1.5mm・深さ 1.0mm の骨軟骨欠損を作製し、術後 1 週・2 週・4 週・24 週経過時点で骨軟骨欠損部に集まる細胞の由来を肉眼および組織学的に検討した。

### 【結果】

末梢血中の GFP 陽性細胞の割合はパラバイオーシスモデル作成後 2 週経過時点でそれぞれの個体で約 50% となり、その後もそれが維持されていることが確認された。骨軟骨欠損部は肉眼的には術後 1 週から 2 週までは修復部と周囲の境界は明らかであったが、経時的にその境界は不明瞭となり、術後 24 週経過時点ではほとんどなくなっていた。組織学的には、骨軟骨欠損作製術後 1 から 4 週の初期経過期間においては、wild rat の修復組織中で GFP 陽性細胞が多数認められた。また wild rat の一部には GFP 陽性の軟骨細胞も認められた。末梢血由来の細胞の割合は、初期には自己由来ではない細胞が 30-40% 存在していたものが後期 (24 週) では 0-7% と経時的に減少していき、最終的には修復された組織はほぼ自己由来の細胞で占められていた。

### 【結論】

骨軟骨欠損自然修復において、初期には血流に由来する有核細胞が修復に関与していたが、その後次第に自己由来の細胞が分化して修復されることが判明した。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

外傷後症例や変形性関節症において、骨軟骨欠損が生じた場合、経時的に自己修復されることが報告されている。しかし、この過程における末梢血の関与についてはこれまで明らかにされていない。本研究の目的は、骨軟骨欠損の自然修復過程における末梢血由来有核細胞の関与について明らかにすることである。

4 週齢のメス Lewis GFP (Green Fluorescent Protein) transgenic rat と同週齢のメス Lewis wild type rat を用いてパラバイオーシスモデルを作製した。モデル作製後、0, 1, 2, 4, 8, 16 および 28

週経過時点で、それぞれの血流中にしめる GFP 陽性有核細胞の割合をフローサイトメトリーを用いて確認した。血液の共有が確認された後に、大腿骨顆部に直径 1.5mm・深さ 1.0mm の骨軟骨欠損を作製し、術後 1・2・4・24 週経過時点で骨軟骨欠損部に集まる細胞の由来を肉眼的および組織学的に検討した。

末梢血中の GFP 陽性細胞の割合は、パラバイオーシスモデル作製後 2 週経過時点でそれぞれの個体で約 50%となり、その後もその割合が維持されていた。骨軟骨欠損を作製した後、1-2 週間経過時点では修復部と周囲の境界は明瞭であったが次第に不明瞭となり、術後 24 週では判別不可能となった。組織学的には 1 から 4 週の初期経過期間においては、wild rat の修復組織中で GFP 陽性細胞が多数認められた。また wild rat の一部には GFP 陽性の軟骨細胞も認められた。GFP 陽性細胞の割合は、初期には 30-40%存在していたが、24 週経過時点では 0-7%と経時的に減少していき、最終的には修復された組織はほぼ自己母床由来の細胞で占められていた。

以上の実験結果から骨軟骨欠損自然修復において、初期には血流に由来する有核細胞が修復に関与していたが、その後次第に自己母床由来の細胞が関与することが判明した。

この研究は臨床的にみられる骨軟骨欠損後の修復過程に、末梢血由来有核細胞が関与していることを明らかにした重要な基礎的研究である。よって本研究は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。